

# LA DISPERSIÓN DE LA ARAÑA ROJA *Tetranychus urticae* (ACARI: TETRANYCHIDAE) EN MANDARINO CLEMENTINO

<sup>1</sup> Torres Hnos. y Sucs. S.A.U.  
Departamento de Calidad.  
Almenara (Castellón).  
eaguilar@naranjastorres.com

<sup>2</sup> Unitat Associada d'Entomologia.  
Universitat Jaume I (UJI).  
Institut Valencià d'Investigacions  
Agràries (IVIA).  
Castelló de la Plana.

<sup>3</sup> Universitat de Lleida (UdL).  
Departament d'Hortofruticultura,  
Botànica i Jardineria (HBJ).  
Grup de Malherbolgia i Ecologia  
Vegetal.  
Lleida.

<sup>4</sup> Facultad de Ciencias Biológicas.  
Departamento de Biología Vegetal.  
Universitat de València.  
Burjassot, Valencia.

## INTRODUCCIÓN

La araña roja *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) es una plaga clave en mandarino clementino, *Citrus clementina* Tanaka (Rutaceae), en España (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2014). Este ácaro puede encontrarse fácilmente en los huertos de clementino, tanto en los árboles como en la flora asociada, ya sea espontánea o sembrada. En estudios previos, encontramos que en clementino la gestión del hábitat a través de una cubierta vegetal de *Festuca arundinacea* Schreber (Poaceae) ofreció una mejor regulación natural de las poblaciones de araña roja que el suelo desnudo o una cubierta vegetal espontánea (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2009, 2010, 2011a, b). Los resultados obtenidos en estos estudios apuntan a que la

## Resumen

El conocimiento sobre las pautas de dispersión de las especies plaga puede ser un factor esencial para su control biológico. *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) es una especie cosmopolita y polífaga que puede alcanzar el estatus de plaga en muchos cultivos, incluido mandarino clementino, donde se encuentra no sólo en el cultivo sino también en la cubierta vegetal, ya sea ésta espontánea o sembrada. En estudios previos demostramos que la cubierta vegetal de *Festuca arundinacea* Schreber (Poaceae) ofrecía mejor regulación natural de las poblaciones de araña roja frente a las alternativas tradicionales de suelo desnudo o cubierta espontánea. Por esta razón se decidió estudiar la dispersión de esta especie a través del tronco en mandarino clementino con una cubierta vegetal de esta gramínea a lo largo de un año completo. La migración ambulatoria a través del tronco fue mayor de la cubierta hacia la copa árbol. Sin embargo, a través de regresiones multivariantes se observó que la dinámica poblacional de *T. urticae* en el árbol estaba directamente relacionada con la de los fitoseidos, sus principales enemigos naturales. Sorprendentemente, no se encontró ninguna relación con las poblaciones de araña de la cubierta vegetal, ni con la que se dispersaba de la cubierta hacia el árbol. Tanto las poblaciones de araña de la cubierta vegetal como las del árbol y las que estaban en dispersión por el tronco se sometieron a un análisis molecular mediante marcadores moleculares microsatélite, que determinaron que el número de clústeres genéticos era 2. Un clúster agrupó a todos los individuos que se dispersaban de la cubierta (recogidos en el tronco del árbol) y a un 27,5% de los individuos recogidos en la cubierta vegetal. El segundo clúster agrupó a todos los individuos de la copa del árbol y al 72,5% de los recolectados en la cubierta. Ninguno de los individuos recogidos en la copa de los clementinos se agrupó con el primer clúster. Este resultado puede tomarse como indicativo de que la población de araña de la cubierta vegetal gramínea se ha adaptado a este huésped y, por ello, no es capaz de colonizar y establecerse en los clementinos. Esta adaptación puede tener efectos negativos sobre la dispersión y establecimiento de la población de araña en los árboles de clementino, contribuyendo a la mejor regulación natural de esta especie plaga en huertos de clementino con cubierta vegetal de la gramínea *F. arundinacea*.

regulación de la población de araña se produce no solo a través de una mayor abundancia y diversidad de sus enemigos naturales, los ácaros fitoseidos, sino también a través de procesos de regulación relacionados con la naturaleza de la cubierta vegetal que afecta a las poblaciones de araña roja (especialización en la planta huésped). A partir de estos resultados, formulamos una hipótesis sobre la selección de dos razas

de araña roja, una especializada en clementino y otra en *F. arundinacea*, cuando la cubierta vegetal gramínea está presente en el huerto. Por un lado, estudios de genética molecular con marcadores moleculares microsatélite apoyaron esta hipótesis e indicaron la adaptación de la araña en este agroecosistema. Por otro lado, en ensayos de laboratorio de trasplante recíproco se observó un menor desarrollo de las poblaciones



de araña roja en el huésped recíproco que en el de origen en clementino, pero no en festuca, donde ambas poblaciones se desarrollaron por igual (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2012). Teniendo en cuenta estos resultados podríamos predecir que la coexistencia de ambas razas, la de clementino y la de festuca, en un mismo huerto sería muy difícil, ya que la de clementino sería capaz de competir y desplazar a la de festuca, ya que se desarrolla mejor sobre clementino e igual de bien sobre la cubierta vegetal. Sin embargo, en condiciones de campo, cuando se usa una cubierta de festuca, esto no ocurre y se encuentran poblaciones de araña roja muy elevadas en la cubierta pero que no resultan en fuertes infestaciones en el árbol de clementino (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2009, 2010). Estos resultados apuntan a que hay otros factores en juego que son cruciales para mantener las poblaciones de araña roja en la cubierta de festuca en condiciones naturales y uno de esos factores clave podría ser la dispersión.

La dispersión es un componente muy importante que permite a las especies propagarse y escapar de condiciones desfavorables, y colonizar nuevas áreas (Price 1984). La persistencia y el estatus como especie plaga de la araña roja en muchos agroecosistemas depende de su dispersión entre huéspedes adecuados para su desarrollo (Margolies y Kennedy 1985). Por tanto, la dispersión puede considerarse como un factor esencial para entender la regulación natural de esta especie plaga en un agroecosistema como son los clementinos con cubierta vegetal gramínea. Las especies con una dispersión limitada, como son los ácaros, están más afectados por el impacto genético y demográfico de la fragmentación del hábitat (Bailey *et al.*, 2004). La araña roja muestra un comportamiento de dispersión activa ambulatorio caminando y/o aprovechando las corrientes de aire.

La dispersión ambulatoria ocurre de manera local para buscar alimentación, refugio, y/o lugares de puesta, hibernación/estivación. Los ácaros colonizan las hojas y forman colonias. Su movimiento en una colonia o dentro de un estrato ocurre de manera ambulatoria y supone un riesgo bajo de mortalidad (Strong *et al.*, 1999). En un agroecosistema en el que se entrelazan las copas de los árboles, todo el sistema puede considerarse como un único huésped para la araña. Por tanto, una gran parte de su población puede propagarse desde un foco inicial que se dispersa de manera ambulatoria planta a planta y desde la cubierta vegetal (Kennedy y Smitley 1985). Por otro lado, la dispersión aérea requiere un comportamiento adaptativo específico (Kennedy y Smitley 1985; Li y Margolies 1993) y tiene como objetivo el movimiento de la población a lugares nuevos, es decir, la propagación a otros huertos (Croft y Jung 2001). Una degradación del hábitat, como puede resultar tras un incremento en la densidad poblacional, una disminución de la calidad de la planta huésped, un incremento en la densidad de enemigos naturales, o la aplicación de un acaricida, puede acelerar este tipo de dispersión (Smitley y Kennedy 1988; Grafton-Cardwell *et al.*, 1991; Li y Margolies 1993; Margolies 1995). Por tanto, la tasa migración y la distancia recorrida según el mecanismo de dispersión (ambulatoria y aérea) pueden ser muy distintos en el tiempo y según las condiciones de la plantación (Uesugi *et al.*, 2009a).

El estudio de la dinámica de razas de araña roja adaptadas a su huésped en clementino con cubierta vegetal de festuca puede ser utilizado no solo para mejorar el control de esta plaga, sino también para estudiar otros sistemas biológicos. Esta información es importante cuando se hace una gestión de la cubierta vegetal con el objetivo de reducir el control químico (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2011c) e

incrementar los mecanismos de regulación natural de la especie plaga (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2011b). En este estudio, se describe la dispersión ambulatoria de la araña roja en clementino con una cubierta vegetal de la gramínea *F. arundinacea* y se relaciona con la existencia de razas de araña roja adaptadas a su planta huésped y su control. El objetivo final es entender mejor las pautas de movimiento de la araña roja entre el árbol y la cubierta vegetal. Ello puede proporcionar formas de mejorar la gestión de la cubierta vegetal para reducir la población de la araña roja en los cultivos.

## METODOLOGÍA

### Parcela experimental

Se estudió la dispersión tanto de la araña roja como de sus principales enemigos naturales, los ácaros fitoseidos en clementino mandarino (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. cv. Clementina de Nules injertada en citrange Carrizo) en un huerto con *F. arundinacea* localizado en la Universitat Jaume I (Castelló de la Plana). Este huerto, que consiste en 5 filas de 15 árboles, se plantó en junio de 2004 con un marco de plantación de 5 x 3,5 m. En septiembre de 2009 se sembró una cubierta vegetal de *F. arundinacea*. Durante el periodo estudiado (2010/11) no se aplicaron plaguicidas y la cubierta fue segada en junio. Los datos meteorológicos se obtuvieron del Sistema de Información Agroclimática para el Regadío (SIAR) y los valores de temperatura, humedad relativa y precipitaciones durante el periodo estudiado se muestran en la Figura 1 (pág. 238).



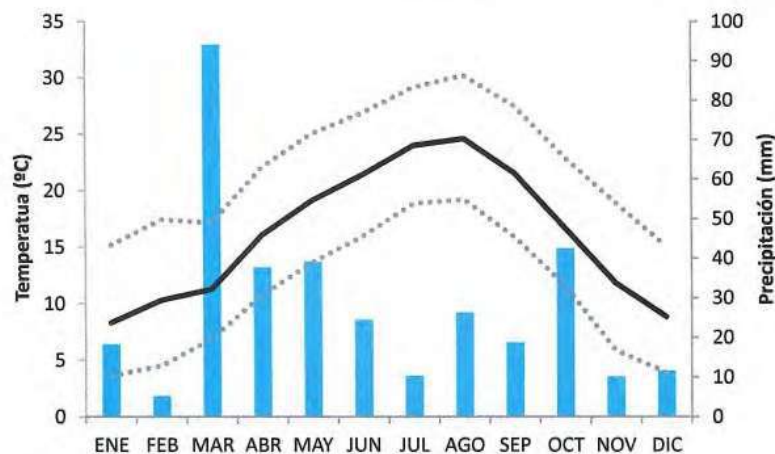


Figura 1. Condiciones climáticas durante el ensayo de campo. Temperatura media (línea continua), máxima, mínima (líneas punteadas), y precipitaciones (barras).



Campo de clementino con cubierta vegetal de festuca.



Daño de araña roja en hoja y frutos.

Calidad  
Certificada

SHC



# BIAGRO

## BIOESTIMULANTES AGRÍCOLAS

100%  
ecológicos

### Nutrobi Zn-Mn Advance

la corrección de  
carencias de Zinc  
y Manganeso mas  
eficaz

### Glyco

estimulante  
vegetativo

### Bial Micro

vasodilatador y  
estimulador de la  
vegetación

### Metalosate Calcio

la mejor vía para  
aportar Calcio al  
fruto

### Foli-Stop

cobre sistémico

### Maxcit Ultra

potenciador de aca-  
ricidas e insecticidas

### Binat Engorde Plus

mejora el tamaño  
y la calidad de los  
frutos

LA MEJOR GAMA PARA SUS CITRICOS



### Población de ácaros en dispersión

Los ácaros en dispersión ambulatoria a través del tronco se capturaron en una banda pegajosa Rollertrap® (Koppert Biological Systems, NL) de 5 cm de ancho. Estas bandas se colocaron en 10 árboles de la fila central del huerto. Antes de iniciar los ensayos se colocó una banda de cinta americana de 6 cm de ancho alrededor del tronco a una altura de 50 cm del suelo y se selló con silicona para cerrar fisuras que permitieran escapes de ácaros bajo la banda. Sobre esta estructura se colocaban las bandas pegajosas, que se reemplazaban semanalmente (el huerto se muestreó un total de 52 veces por lo que se recolectaron en total 520 bandas). Las bandas pegajosas se llevaban al laboratorio y los ácaros se contaban bajo lupa binocular. Los ácaros encontrados en la parte inferior y superior de la banda representan aquellos individuos que caminaban hacia arriba (de la cubierta hacia el árbol) y hacia abajo (del árbol hacia la cubierta), respectivamente. No hubo solapamiento entre los ácaros que se desplazaban hacia arriba y hacia abajo, y no se observaron ácaros más allá de unos pocos milímetros del borde de la banda.

### Población de ácaros en el árbol y en la cubierta vegetal

Una vez al mes se tomaron al azar 100 hojas (100 g aprox.) de los 10 clementinos en los que estaba instalada la banda pegajosa y 100 g de cubierta vegetal de festuca. Estas muestras se procesaron en embudos de Berlese para la extracción de los ácaros, que se separaban de otros artrópodos con la ayuda de una lupa binocular, para ser identificados al microscopio óptico.

### Dinámica poblacional de la araña roja

Para entender la dinámica de la especie plaga, la araña roja, en el

clementino se ajustaron modelos de regresión múltiple entre sus poblaciones y los diferentes factores tanto bióticos como abióticos: las poblaciones de araña en dispersión por el tronco y en la cubierta vegetal, la población de fitoseidos tanto en dispersión por el tronco como en la copa del árbol y la cubierta vegetal, y los factores climáticos. Se utilizó un procedimiento de regresión por pasos que identificó el conjunto de variables que tuvieron un efecto significativo sobre la respuesta (población de araña en el clementino) y que a la vez presentaba el menor valor del criterio de información de Akaike (AIC). Se utilizó el software 'R' versión 2.14.1 (R Development Core Team 2011) y su paquete de "mass" (Venables y Ripley 2002) para el análisis de los datos.

### Estudio de biología molecular

Se tomaron 40 individuos de la cubierta vegetal, 48 de los árboles de clementino y 87 del tronco del árbol (81 en dirección ascendente de la cubierta al árbol y 6 en dirección descendente del árbol a la cubierta) en enero de 2013. Los ácaros de las hojas de clementino y de la cubierta de festuca se extrajeron mediante embudos de Berlese mientras que los del tronco se tomaron directamente de la banda pegajosa Rollertrap® (Koppert Biological Systems, NL). Los ácaros se individualizaron en tubos de microcentrífuga de 1,5 ml y congelaron a -80 °C hasta que se procesaron. El ADN genómico se extrajo siguiendo el protocolo "salting out" (Sabater-Muñoz *et al.*, 2012). Trabajamos con 20 marcadores moleculares microsatélite que amplificaron en 21 loci (Navajas *et al.* 1998, 2002, Nishimura *et al.* 2003, Uesugi y Osakabe 2007, Sabater-Muñoz *et al.*, 2012) y se agruparon en 4 PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) multiplex (Pascual-Ruiz *et al.*, 2014). Para su análisis se recurrió a la electroforesis con ABI/PE 3130 GeneAnalyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), ya que se em-

plearon de diferentes fluorocromos para el marcaje de los cebadores, lo que nos permitió la detección por emisión de fluorescencia, al mismo tiempo, de varios productos de PCR, es decir, de varios marcadores. Finalmente según el tamaño obtenido de los fragmentos, estos fueron asignados a alelos con el programa informático GeneMarker V2.6.1 (SoftGenetics, State College, PA, USA). Dos de los 21 marcadores moleculares, 2 no amplificaron en una alta proporción (fallaron en más de un 15% de los 175 individuos muestreados) y otro de los marcadores fue monomórfico, por lo que estos 3 marcadores se descartaron para los análisis. La estructura de la población se analizó a través de análisis bayesiano con el programa informático STRUCTURE version 2.2 (Pritchard *et al.*, 2000), que asigna a los individuos a un número predefinido de clústeres en base a un análisis probabilístico de los genotipos, y se determinó el número óptimo de clústeres genéticos (K) siguiendo la metodología descrita por Evanno *et al.* (2005).

## RESULTADOS

### Población de ácaros en dispersión

Se identificaron un total de 6.808 ácaros en las 520 bandas pegajosas procesadas. Entre los ácaros, se determinó que 3.530 fueron tetraníquidos (3.588 que se desplazaban hacia arriba y 160 hacia abajo), 2.839 tetranychidos (1.722 hacia arriba y 1.117 hacia abajo), 79 tenuipálpidos (68 hacia arriba y 11 hacia abajo), 75 fitoseidos (63 hacia arriba y 12 hacia abajo) y 71 ácaros pertenecientes a otras familias.

Se observó un flujo casi constante de ácaros tetraníquidos desde la cubierta vegetal hacia el árbol con un pico poblacional en marzo, que coincide con un pico en los fitoseidos. Estos depredadores tuvieron un segundo pico poblacional en otoño, mientras que prácticamente no se observó movimiento de sus poblaciones el resto del año. El movimiento



tanto de arañas rojas como de fitoseidos desde el árbol hacia la cubierta vegetal (hacia abajo) fue escaso, especialmente si lo comparamos con el movimiento hacia arriba (Figura 2).

### Población de ácaros en el árbol y en la cubierta vegetal

Se identificaron un total de 240 y 732 ácaros de los árboles de clementino y de la cubierta de festuca respectivamente. En la cubierta vegetal la familia de ácaros más abundante fue la de los tiseidos (434 especímenes) seguida por los acarídeos (184). Sin embargo la familia más abundante en el árbol fue la de los fitoseidos (107) seguidos de tiseidos (86) y tetraníquidos (43). En los

árboles de clementino, de los tetraníquidos identificados el 86,1% eran la araña roja *T. urticae* y el 13,9% el ácaro rojo de los cítricos *Panonychus citri* (McGregor). De agosto a octubre se registró la mayor abundancia de araña roja en los clementinos, justo tras la drástica caída de la población de fitoseidos. De hecho, los fitoseidos fueron la familia de ácaros más abundante en los árboles mientras que en la cubierta vegetal se encontraron de manera muy escasa durante el invierno y principio de la primavera (de diciembre a abril) (Figura 3).

### Dinámica poblacional de la araña roja

El modelo matemático con la combinación de variables que mejor explicó la población de la araña roja *T. urticae* en los árboles de clementino (menor AIC y mayor  $R^2$ ) incluyó a los fitoseidos dispersándose hacia la cubierta (relación negativa), los fitoseidos en el árbol (relación positiva), la humedad relativa (relación positiva) y las precipitaciones (relación negativa) (Tabla 1, pág. 243). Como resultado muy interesante cabe destacar que ni la población de araña roja en la cubierta vegetal ni la que está en dispersión a través del tronco afectaron significativamente a la población de esta especie en el árbol.

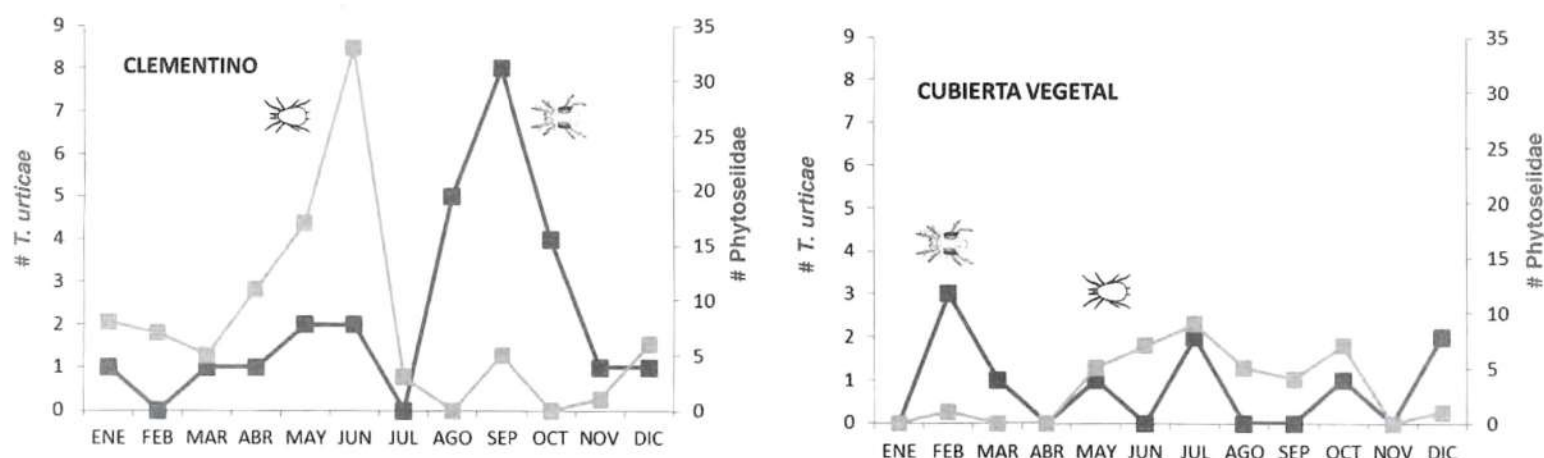
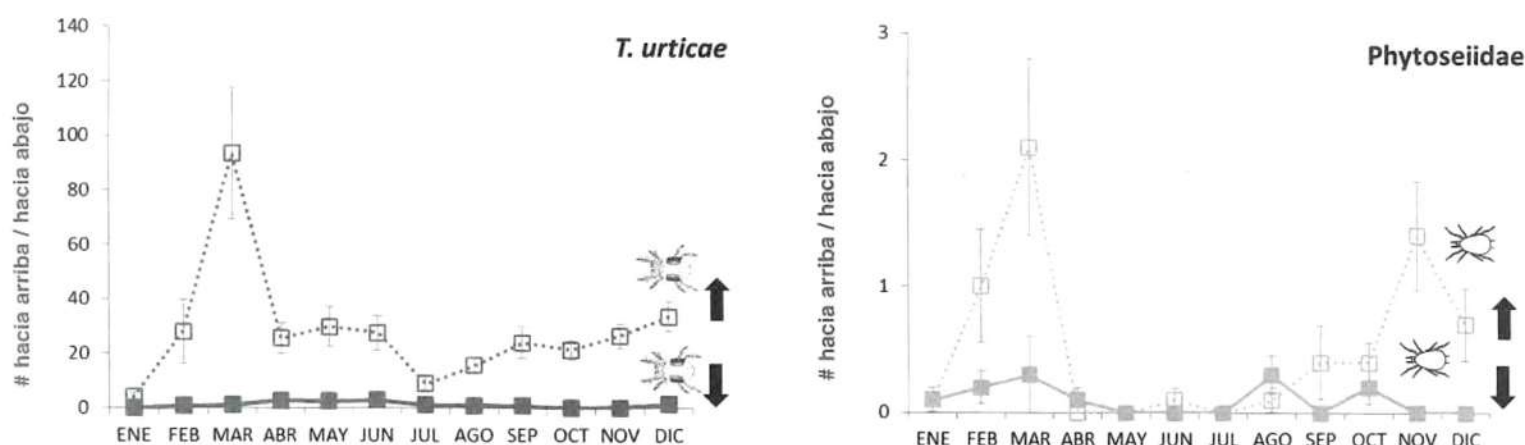


Figura 3. Dinámica mensual de *T. urticae* (línea oscura) y fitoseidos (línea clara) en clementino y en la cubierta vegetal de *F. arundinacea* (# ácaros/100 g de hojas).



## Estudio molecular

Tal y como se describe más detalladamente en Aguilar-Fenollosa *et al.*, (2016) los 18 marcadores moleculares microsatélite estudiados en los grupos poblacionales fueron polimórficos excepto uno. El número de alelos varió entre 3 y 8 y se observaron un total de 85 alelos diferentes. Los índices de diversidad genética en los tres grupos poblacionales estudiados fueron similares, los niveles de heterocigosidad fueron de bajos a moderados, y el coeficiente de endogamia se desvió significativamente de cero, indicando que el conjunto de las poblaciones estudiadas no se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

La estimación gráfica del número más probable de clústeres siguiendo la metodología descrita por Evanno *et al.* (2005) resultó ser 2. En el primer clúster se agruparon todos los individuos en dispersión a través del tronco y el 27,5% de los individuos de la cubierta vegetal y en el segundo clúster se agruparon todos los individuos del árbol y el 72,5% de la cubierta vegetal.

## DISCUSIÓN

Las regresiones multivariantes apuntan a que a pesar de que la dispersión de la araña roja se produce mayoritariamente de la cubierta vegetal de festuca hacia el clementino, la araña roja en el clementino no está relacionada ni con la población de araña roja en la cubierta vegetal ni con la que está dispersándose de la misma (Tabla 1). Además, las bajas poblaciones de araña roja observadas en los árboles enfatizan la conveniencia de *F. arundinacea* como cubierta vegetal para la regulación natural de esta especie plaga en cítricos (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2009, 2010). El papel de la dispersión de *T. urticae* en otros agroecosistemas también se ha estudiado y, al igual que nuestro estudio, muestran su importancia en la dinámica poblacional y en el estatus de esta

**Tabla 1.** Coeficientes de la regresión multivariante ajustada para explicar las poblaciones de araña roja *T. urticae* en los árboles de clementino durante el periodo de muestreo. Se empleó un procedimiento de regresión por pasos en el que se identificó el modelo con el conjunto de variables que teniendo un efecto significativo en la población de araña roja en el clementino resultaban en un menor AIC (Criterio de información de Akaike) y mayor  $R^2$ .

	Coeficiente	ES	t	Pr(> t )
Ordenada en el origen	-26,50	3,68	-7,20	<0,001
Fitoseidos moviéndose hacia abajo	6,29	2,31	2,72	0,029
Fitoseidos en el árbol	-0,11	0,03	-4,01	0,003
Humedad relativa	0,43	0,06	7,55	<0,001
Precipitaciones	-0,19	0,03	-6,75	<0,001
Error estándar residual	0,639 en 7 gl; AIC = -7,22			
$R^2$ ; F; P	92,07; 32,94 en 4, 7 gl; <0,001			

especie plaga tan polífaga (e.g. Hardman *et al.*, 2005; 2011). Sin embargo, ninguno de estos trabajos se ha complementado con un estudio de biología molecular. Además, nuestros análisis con marcadores moleculares microsatélite se llevaron a cabo con especímenes tomados de campo directamente. Hay muy pocos estudios realizados con poblaciones naturales de araña roja (no criadas en laboratorio) (Carbonnelle *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2009; Uesugi *et al.*, 2009b; Pascual-Ruiz *et al.*, 2014b). La diversidad genética y la estructura de poblaciones de campo están definidas por las fuerzas de la evolución como la mutación, migración, selección natural, entre otros factores. En los cultivos, que son ecosistemas antropizados, diferencias en su gestión (como puede ser la implementación de una cubierta vegetal monoespecífica) pueden inducir mayor presión de selección en una población y en consecuencia distorsionar la dinámica poblacional natural. Nuestro estudio ha revelado que los fenómenos de especialización de huésped que observamos en laboratorio (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2012) también pueden producirse en campo, ya que detectamos dos razas diferentes de araña roja coexistiendo. Una de ellas incluía a los individuos en dispersión de la cubierta vegetal (tomados del tronco del clementino) y el 27,5% de los individuos de la cubierta y la segundo clúster incluyó a los individuos del árbol y el resto de la cubierta

vegetal (72,5%). Este alto porcentaje de ácaros de la cubierta vegetal más relacionados genéticamente con los de clementino indicaría la existencia de mecanismos de dispersión alternativos, como la dispersión aérea o gravitacional, que podría compensar las grandes diferencias observadas en la dispersión ambulatoria a través del tronco, que era mayoritariamente hacia arriba. Cabe destacar, que ninguno de los individuos de clementino se agrupó con los que se dispersan a través del tronco y parte de los de la cubierta. Este resultado podría confirmar la existencia de una raza de *T. urticae* incapaz de colonizar el clementino, contribuyendo a una mejor regulación natural de esta especie plaga cuando se emplea *F. arundinacea* como cubierta.

Fellous *et al.* (2014) observaron que la araña roja tomada de los cítricos era capaz de sobrevivir en otras plantas huéspedes diferentes de la de origen mientras que esto no ocurría con la araña roja recogida de tomate, que únicamente era capaz de sobrevivir sobre su planta huésped de origen. Esto mismo podría ocurrir en nuestro sistema, que la araña roja de clementino podría sobrevivir sobre la festuca (por eso el primer clúster agrupó a la población del árbol con parte de los de la cubierta, derivados de la dispersión aérea) pero cuando los ácaros de la cubierta de festuca se dispersan



## Estudio molecular

Tal y como se describe más detalladamente en Aguilar-Fenollosa *et al.*, (2016) los 18 marcadores moleculares microsatélite estudiados en los grupos poblacionales fueron polimórficos excepto uno. El número de alelos varió entre 3 y 8 y se observaron un total de 85 alelos diferentes. Los índices de diversidad genética en los tres grupos poblacionales estudiados fueron similares, los niveles de heterocigosidad fueron de bajos a moderados, y el coeficiente de endogamia se desvió significativamente de cero, indicando que el conjunto de las poblaciones estudiadas no se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg.

La estimación gráfica del número más probable de clústeres siguiendo la metodología descrita por Evanno *et al.* (2005) resultó ser 2. En el primer clúster se agruparon todos los individuos en dispersión a través del tronco y el 27,5% de los individuos de la cubierta vegetal y en el segundo clúster se agruparon todos los individuos del árbol y el 72,5% de la cubierta vegetal.

## DISCUSIÓN

Las regresiones multivariantes apuntan a que a pesar de que la dispersión de la araña roja se produce mayoritariamente de la cubierta vegetal de festuca hacia el clementino, la araña roja en el clementino no está relacionada ni con la población de araña roja en la cubierta vegetal ni con la que está dispersándose de la misma (Tabla 1). Además, las bajas poblaciones de araña roja observadas en los árboles enfatizan la conveniencia de *F. arundinacea* como cubierta vegetal para la regulación natural de esta especie plaga en cítricos (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2009, 2010). El papel de la dispersión de *T. urticae* en otros agroecosistemas también se ha estudiado y, al igual que nuestro estudio, muestran su importancia en la dinámica poblacional y en el estatus de esta

**Tabla 1.** Coeficientes de la regresión multivariante ajustada para explicar las poblaciones de araña roja *T. urticae* en los árboles de clementino durante el periodo de muestreo. Se empleó un procedimiento de regresión por pasos en el que se identificó el modelo con el conjunto de variables que teniendo un efecto significativo en la población de araña roja en el clementino resultaban en un menor AIC (Criterio de información de Akaike) y mayor  $R^2$ .

	Coefficiente	ES	t	Pr(> t )
Ordenada en el origen	-26,50	3,68	-7,20	<0,001
Fitoseidos moviéndose hacia abajo	6,29	2,31	2,72	0,029
Fitoseidos en el árbol	-0,11	0,03	-4,01	0,003
Humedad relativa	0,43	0,06	7,55	<0,001
Precipitaciones	-0,19	0,03	-6,75	<0,001
Error estándar residual	0,639 en 7 gl; AIC = -7,22			
$R^2$ ; F; P	92,07; 32,94 en 4, 7 gl; <0,001			

especie plaga tan polífaga (e.g. Hardman *et al.*, 2005; 2011). Sin embargo, ninguno de estos trabajos se ha complementado con un estudio de biología molecular. Además, nuestros análisis con marcadores moleculares microsatélite se llevaron a cabo con especímenes tomados de campo directamente. Hay muy pocos estudios realizados con poblaciones naturales de araña roja (no criadas en laboratorio) (Carbonnelle *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2009; Uesugi *et al.*, 2009b; Pascual-Ruiz *et al.*, 2014b). La diversidad genética y la estructura de poblaciones de campo están definidas por las fuerzas de la evolución como la mutación, migración, selección natural, entre otros factores. En los cultivos, que son ecosistemas antropizados, diferencias en su gestión (como puede ser la implementación de una cubierta vegetal monoespecífica) pueden inducir mayor presión de selección en una población y en consecuencia distorsionar la dinámica poblacional natural. Nuestro estudio ha revelado que los fenómenos de especialización de huésped que observamos en laboratorio (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2012) también pueden producirse en campo, ya que detectamos dos razas diferentes de araña roja coexistiendo. Una de ellas incluía a los individuos en dispersión de la cubierta vegetal (tomados del tronco del clementino) y el 27,5% de los individuos de la cubierta y la segundo clúster incluyó a los individuos del árbol y el resto de la cubierta

vegetal (72,5%). Este alto porcentaje de ácaros de la cubierta vegetal más relacionados genéticamente con los de clementino indicaría la existencia de mecanismos de dispersión alternativos, como la dispersión aérea o gravitacional, que podría compensar las grandes diferencias observadas en la dispersión ambulatoria a través del tronco, que era mayoritariamente hacia arriba. Cabe destacar, que ninguno de los individuos de clementino se agrupó con los que se dispersan a través del tronco y parte de los de la cubierta. Este resultado podría confirmar la existencia de una raza de *T. urticae* incapaz de colonizar el clementino, contribuyendo a una mejor regulación natural de esta especie plaga cuando se emplea *F. arundinacea* como cubierta.

Fellous *et al.* (2014) observaron que la araña roja tomada de los cítricos era capaz de sobrevivir en otras plantas huéspedes diferentes de la de origen mientras que esto no ocurría con la araña roja recogida de tomate, que únicamente era capaz de sobrevivir sobre su planta huésped de origen. Esto mismo podría ocurrir en nuestro sistema, que la araña roja de clementino podría sobrevivir sobre la festuca (por eso el primer clúster agrupó a la población del árbol con parte de los de la cubierta, derivados de la dispersión aérea) pero cuando los ácaros de la cubierta de festuca se dispersan



hacia el clementino no son capaces de colonizarlo con éxito debido a que únicamente pueden sobrevivir en el huésped de origen. Por esta razón el segundo clúster agrupó a la población en dispersión a través del tronco y a parte de los individuos de la cubierta. La capacidad de la población de araña roja de clementino para explotar la cubierta de gramíneas, muestra la resistencia de esta población a las defensas de esta planta. De acuerdo con lo que se sabe de los procesos de defensa de los cítricos contra la araña roja (Agut *et al.*, 2014; 2015), los cítricos utilizan diferente vías para hacer frente al ataque de *T. urticae*, lo que daría lugar a que la araña roja desarrolle de un amplio espectro de mecanismos de defensa contra las plantas.

El flujo genético entre poblaciones de araña que viven de diferentes huéspedes puede dar lugar a nichos poblacionales de diferente amplitud (Fellous *et al.*, 2014). De hecho, los ácaros que alternan entre huéspedes, mantienen la capacidad de vivir en ambos. Como ocurriría con la población del clementino, que también es capaz de desarrollarse sobre la cubierta (Aguilar-Fenollosa *et al.*, 2012) y que podría ser consecuencia de que la población de araña de clementino encuentra refugio en la cubierta vegetal de la gramínea en su ciclo de vida (lugar de hibernación / estivación, cuando se aplica control químico en el árbol, etc.). Esto es congruente no sólo con el estudio molecular, sino también con las regresiones multivariantes que muestran algunos factores climáticos como significativos al modelizar la población de araña en el clementino (Tabla 1).

Vistos los resultados, si una parte de la araña roja de este agroecosistema no es capaz de establecerse en los árboles de clementino (clúster que agrupa a los ácaros en dispersión a través del tronco junto con parte de los ácaros de la cubierta) pero la otra parte de la población es capaz de

prosperar tanto en la cubierta como en el árbol (clúster que agrupa a los ácaros del árbol y parte de los de la cubierta), el primer clúster no podría contribuir demográficamente al segundo (ni por colonización ni por inmigración) pero el segundo clúster puede moverse y colonizar la cubierta (ya sea por dispersión ambulatoria o aérea, no cuantificada en este estudio). Estas diferencias entre razas podrían sugerir un flujo asimétrico de individuos y de genes entre las poblaciones de araña roja que infestan diferentes huéspedes en un mismo agroecosistema. Estas variaciones entre el rango de huéspedes de la araña roja podría indicar que algunas plantas huésped pueden actuar como reservorio (como el clementino) de plagas mientras que otras podrían ser solo receptoras pero no reservorio (como la gramínea festuca).

Las regresiones multivariantes apuntan además a un componente muy importante en los fitoseidos (Tabla 1). Se sabe que la distribución espacial de una presa en un hábitat depende del comportamiento relacionado con la búsqueda de comida, individuos de su misma especie para reproducirse, de lugares para la puesta o para evitar depredadores (Sih 1987; Alonzo 2002; Lima 2002). De hecho se sabe que los enemigos naturales pueden afectar directamente a la distribución de la presa (e.g. Peacor y Werner 2001; Luttbeg y Kerby 2005; Preisser *et al.*, 2005; Walzer *et al.*, 2009). El complejo de fitoseidos es mucho más diverso en la cubierta vegetal de festuca y además los fitoseidos especialistas en tetraníquidos son más frecuentes y abundantes en este tipo de cubierta. Estos depredadores especializados en su presa pueden ejercer una mayor presión sobre la presa, dado que han co-evolucionado con ella (Bolker *et al.*, 2003; Relyea 2003; Walzer *et al.*, 2009). Esta presión es lo que podría explicar la migración de la araña roja desde la cubierta a los

árboles de clementino, a pesar que esta población no fuese capaz de colonizar con éxito el árbol. Además, como hemos visto, las poblaciones de araña roja en el clementino están relacionadas negativamente con las poblaciones de fitoseidos del árbol (cuantos más fitoseidos en el árbol menos araña roja en el clementino) y positivamente con los fitoseidos que migran a la cubierta vegetal (cuantos más fitoseidos migran a la cubierta, más araña roja en el clementino). Estos resultados son indicativos del importante papel que juegan los fitoseidos en este agroecosistema, sujeto a control biológico por conservación, como ya ha descrito nuestro grupo de investigación en trabajos anteriores.

En conclusión, los resultados de este trabajo demuestran que una raza de araña roja especializada en la gramínea festuca, cuando se emplea como cubierta vegetal, no es capaz de colonizar y establecerse en el clementino. Por lo que esta especialización en la planta huésped de esta especie tan polífaga podría obstaculizar su dispersión y establecimiento en plantas huésped alternativas. En nuestro agroecosistema, la adaptación de la araña roja a la cubierta vegetal de *F. arundinacea* parece impedir el establecimiento de esta población en el clementino. Estas dinámicas poblacionales podrían contribuir a mejorar el control natural de esta especie plaga en cítricos y podría ser aplicable a otros agroecosistemas.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen M. A. Gómez-Martínez (UJI) por sus consejos sobre técnicas moleculares. Este trabajo ha sido financiado por el Plan Nacional de I+D (AGL2008-05287-C04/AGR y AGL2011-30538-C03-01). JGSM fue financiado por un contrato post-doctoral Ramón y Cajal.



## REFERENCIAS

- Aguilar-Fenollosa E., Pascual-Ruiz S., Hurtado-Ruiz M., Jacas J.A. 2009. Efecto del manejo de la cubierta vegetal en el control biológico de *Tetranychus urticae* (Acari: Prostigmata) en Clementino. *Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos* 394: 40-48.
- Aguilar-Fenollosa E., Pascual-Ruiz S., Hurtado-Ruiz M., Jacas J.A. 2010. Mejora del control biológico de *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) en clementino mediante la gestión de la cubierta vegetal. *Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos* 403:345-352.
- Aguilar-Fenollosa E., Ibáñez-Gual M.V., Pascual-Ruiz S., Hurtado M., Jacas J.A. 2011a. Effect of ground-cover management on spider mites and their phytoseiid natural enemies in clementine mandarin orchards (I): Bottom-up regulation mechanisms. *Biol Control* 59:158-170. doi: 10.1016/j.biocontrol.2011.06.013.
- Aguilar-Fenollosa E., Ibáñez-Gual M.V., Pascual-Ruiz S., Hurtado M., Jacas J.A. 2011b. Effect of ground-cover management on spider mites and their phytoseiid natural enemies in clementine mandarin orchards (II): Top-down regulation mechanisms. *Biol Control* 59:171-179. doi: 10.1016/j.biocontrol.2011.06.012.
- Aguilar-Fenollosa E., Pascual-Ruiz S., Hurtado-Ruiz M., Jacas J.A. 2011c. Efficacy and economics of ground cover management as a conservation biological control strategy against *Tetranychus urticae* in clementine mandarin orchards. *Crop Prot* 30:1328-1333. doi: 10.1016/j.cropro.2011.05.011.
- Aguilar-Fenollosa E., Pina T., Gómez-Martínez M.A., Hurtado M.A., Jacas J.A. 2012. Does host adaptation of *Tetranychus urticae* populations in clementine orchards with a *Festuca arundinacea* cover contribute to a better natural regulation of this pest mite? *Entomol Exp Appl* 144:181-190. doi: 10.1111/j.1570-7458.2012.01276.x.
- Aguilar-Fenollosa E., Pascual-Ruiz S., Ibáñez-Gual M.V., Hurtado-Ruiz M., Martínez-Ferrer M.T., Jacas J.A. 2014. Umbrales económicos para la araña roja *Tetranychus urticae* (acari: Tetranychidae) en mandarino. *Levante Agrícola: Revista internacional de cítricos* 423:233-242.
- Aguilar-Fenollosa E., Rey-Caballero J., Blasco J. M., Segarra-Moragues J.G., Hurtado M.A., Jaques J.A. 2016. Patterns of ambulatory dispersal in *Tetranychus urticae* can be associated with host plant specialization. *Exp Appl Acarol* 68:1-20. doi: 10.1007/s10493-015-9969-1.
- Agut B., Gamir J., Jacas J.A., Hurtado M., Flors V. 2014. Different metabolic and genetic responses in citrus may explain relative susceptibility to *Tetranychus urticae*. *Pest Manag Sci* 70:1728-1741. doi: 10.1002/ps.3718.
- Agut B., Gamir J., Jaques J.A., Flors V. 2015. *Tetranychus urticae*-triggered responses promote genotype-dependent specific repellence or attractiveness in citrus. *New Phytol.* 207:790-804. doi: 10.1111/nph.13357.
- Alonso H. 2002. State-dependent habitat selection games between predators and prey: the importance of behavioral interactions and expected lifetime reproductive success. *Evol Ecol Res* 4:759-778.
- Bailly X., Migeon A., Navajas M. 2004 Analysis of microsatellite variation in the spider mite pest *Tetranychus turkestanii* (Acari: Tetranychidae) reveals population genetic structure and raises questions about ecological factors. *Biol J Linn Soc* 82:69-78. doi: 10.1111/j.1095-8312.2004.00316.x.
- Bolker B., Holyoak M., Krivan V., Rowe L., Schmitz O. 2003. Connecting theoretical and empirical studies of trait-mediated interactions. *Ecology* 84:1101-1114. doi: 10.1890/0012-9658(2003)084[1101:CTAESO]2.0.CO;2.
- Carbonnelle S., Hance T., Migeon A., Baret P., Cros-Artel S., Navajas M. 2007. Microsatellite markers reveal spatial and genetic structure of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) populations along a latitudinal gradient in Europe. *Exp Appl Acarol* 41:225-241. doi: 10.1007/s10493-007-9068-z.
- Croft B.A., Jung C. 2001. Phytoseiid dispersal at plant to regional levels: a review with emphasis on management of *Neoseiulus fallacis* in diverse agroecosystems. *Exp Appl Acarol* 25:763-784. doi: 10.1023/A:1020406404509.
- Dermauw W., Wybouw N., Rombauts S., Menten B., Vontas J., Grbic M., Clark R.M., Feyereisen R., Van Leeuwen T. 2013. A link between host plant adaptation and pesticide resistance in the polyphagous spider mite *Tetranychus urticae*. *Proc Nat Acad Sci PNAS* 110:E113-E122. doi: 10.1073/pnas.1213214110.
- Evanno G., Regnaut S., Goudet J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol Ecol* 14:2611-2620. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x.
- Fellous S., Angot G., Orsucci M., Migeon A., Auger P., Olivieri I., Navajas M. 2014. Combining experimental evolution and field population assays to study the evolution of host range breadth. *J Evol Biol* 27:911-919. doi: 10.1111/jeb.12362.
- Grafton-Cardwell E.E., Granett J., Normington S.M. 1991. Influence of dispersal from almonds on the population dynamics and acaricide resistance frequencies of spider mites infesting neighboring cotton. *Exp Appl Acarol* 10: 187-212. doi: 10.1007/BF01198650.
- Hardman J.M., Franklin J.L., Bostanian N.J., Thistlewood H.M.A. 2011. Effect of the width of the herbicide strip on mite dynamics in apple orchards. *Exp Appl Acarol* 53:215-234. doi: 10.1007/s10493-010-9397-1.
- Hardman J.M., Jensen K.I., Franklin J.L., Moreau D.L. 2005. Effects of dispersal, predators (Acari: Phytoseiidae), weather, and ground cover treatments on populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) in apple orchards. *J Econ Entomol* 98:862-874. doi: 10.1603/0022-0493.98.3.862.
- Kennedy GG, Smitley DR. (1985) Dispersal. In: Helle W, Sabelis MW (Eds) *Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control*. Vol. 1A. Elsevier Science Publishers, pp 233-242.
- Li J., Margolies D.C. 1994. Responses to direct and indirect selection on aerial dispersal behaviour in *Tetranychus urticae*. *Heredity* 72:10-22. doi: 10.1038/hdy.1994.2.
- Lima S.L. 2002. Putting predators back into behavioral predator-prey interactions. *Trends Ecol Evol* 17:70-75. doi: 10.1016/S0169-5347(01)02393-X.
- Luttbeg B., Kerby J.L. 2005. Are scared prey as good as dead? *Trends Ecol Evol* 20:416-418. doi: 10.1016/j.tree.2005.05.006.
- Margolies D.C. 1995. Evidence of selection on spider mite dispersal rates in relation to habitat persistence in agroecosystems. *Entomol Exp Appl* 76:105-108. doi: 10.1111/j.1570-7458.1995.tb01950.x.
- Margolies D.C., Kennedy G.G. 1985. Movement of the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*, among hosts in a corn-peanut agroecosystem. *Entomol Exp Appl* 37:55-61. doi: 10.1111/j.1570-7458.1985.tb03452.x.
- Navajas M., Perrot-Minnot M.J., Lagnel J., Migeon A., Bourse T., Cornuet J.M. 2002. Genetic structure of a greenhouse population of the spider mite *Tetranychus urticae*: spatio-temporal analysis with microsatellite markers. *Insect Mol Biol* 11:157-165. doi: 10.1046/j.1365-2583.2002.00320.x.
- Navajas M.J., Thistlewood H.M.A., Lagnel J., Hughes C. 1998. Microsatellite sequences are under-represented in two mite genomes. *Insect Mol Biol* 7:249-256. doi: 10.1111/j.1365-2583.1998.00066.x.
- Nishimura S., Hinamoto N., Takafuji A. 2003. Isolation, characterization, inheritance and linkage of microsatellite markers in *Tetranychus kanzawai* (Acari: Tetranychidae). *Exp Appl Acarol* 31:93-103. doi: 10.1007/s10493-005-0410-z.
- Pascual-Ruiz S., Gómez-Martínez M.A., Ansaloni T., Segarra-Moragues J.G., Sabater-Muñoz B., Jacas J.A., Hurtado-Ruiz M.A. 2014b. Genetic structure of a phytophagous mite species affected by crop practices: the case of *Tetranychus urticae* in clementine mandarins. *Exp Appl Acarol* 62:477-498. doi: 10.1007/s10493-013-9755-x.
- Peacor S.D., Werner E.E. 2001. The contribution of trait mediated indirect effects to the net effects of a predator. *Proc Nat Acad Sci PNAS* 98:3904-3908. doi: 10.1073/pnas.071061998.
- Preisser E.L., Bolnick D.I., Benard M.F. 2005. Scared to death? Effects of intimidation and consumption in predator-prey interactions. *Ecology* 86:501-509. doi: 10.1890/04-0719.
- Price P.W. 1984. *Insect ecology*. John Wiley & Sons, New York.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945-959.
- Relyea R.A. 2003. How prey respond to combined predators: a review and an empirical test. *Ecology* 84:1827-1839. doi: 10.1890/0012-9658(2003)084[1827:HPRTCP]2.0.CO;2.
- Sabater-Muñoz B., Pascual-Ruiz S., Gómez-Martínez M.A., Jacas J.A., Hurtado M.A. 2012. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in *Tetranychus urticae* and cross amplification in other Tetranychidae and Phytoseiidae species of economic importance. *Exp Appl Acarol* 57:37-51. doi: 10.1007/s10493-012-9529-x.
- Sih A. 1987. Prey refuges and predator-prey stability. *Theor Popul Biol* 31:1-12. doi: 10.1016/0040-5809(87)90019-0.
- Strong W.B., Slone D.H., Croft B.A. 1999. Hops as a metapopulation landscape for tetranychid phytoseiid interactions: perspectives of intra- and interplant dispersal. *Exp Appl Acarol* 23:581-597. doi: 10.1023/A:1006208218771.
- Uesugi R., Kunimoto Y., Osakabe M. 2009b. The fine-scale genetic structure of the two-spotted spider mite in a commercial greenhouse. *Exp Appl Acarol* 47:99-109. doi: 10.1007/s10493-008-9201-7.
- Uesugi R., Osakabe M.H. 2007. Isolation and characterization of microsatellite loci in the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Mol Ecol Notes* 7:290-292. doi: 10.1111/j.1471-8286.2006.01583.x.
- Uesugi R., Sasawaki T., Osakabe M. 2009a. Evidence of a high level of gene flow among apple trees in *Tetranychus urticae*. *Exp Appl Acarol* 49:281-290. doi: 10.1007/s10493-009-9267-x.
- Venables W.N., Ripley B.D. 2002. *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York. doi: 10.1007/978-0-387-21706-2.
- Walzer A., Moder K., Schausberger P. 2009. Spatiotemporal within-plant distribution of the spider mite *Tetranychus urticae* and associated specialist and generalist predators. *Bull Entomol Res* 99:457-466. doi: 10.1017/S0007485308006494.





## REFERENCIAS

- [illegible]